



Emberi Sejtek És Szövetek Preklinikai Vizsgálatokban: Humán Hátsógyöki Ganglion

- **Sulayman D. Dib-Hajj:** Department of Neurology and Center for Neuroscience and Regeneration Research, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut; and Rehabilitation Research Center, Veterans Administration Connecticut Healthcare System, West Haven, Connecticut, USA
- **Steve Davidson:** Rehabilitation Research Center, Veterans Administration Connecticut Healthcare System, West Haven, Connecticut, USA
- **Robert W. Gereau:** Washington University Pain Center and Department of Anesthesiology, Washington University School of Medicine, St. Louis, Missouri, USA
- **Michael S. Gold:** Pittsburgh Center for Pain Research and Department of Neurobiology, University of Pittsburgh School of Medicine, Pittsburgh, Pennsylvania, USA
- **Theodore J. Price:** Department of Neuroscience and Center for Advanced Pain Studies, University of Texas at Dallas, Texas, USA

A fájdalom olyan szenzoros és emocionális élmény, ami leggyakrabban szövetkárosító hatásra (nociceptív ingerre) alakul ki. A periféria nociceptoroknak nevezett érző neuronjai az elsők, amelyek a szövetkárosító hatásokra aktiválódnak. A neuronok sejtteste a középső koponyagödörben elhelyezkedő ganglion trigeminale-ban, vagy a foramen intervertebraleban található ganglion spinale-ban (hátsógyöki ganglionban) helyezkednek el. Ezeknek a pseudounipolaris neuronoknak a perifériás nyúlványa a beidegzett célszervben (például a bőrben vagy zsigerekben), míg a centrális nyúlványuk az agytörzsben vagy a gerincvelőben végződik. A szenzoros neuronok nagyon heterogén csoportot alkotnak számos alcsoporttal, amelyek mindegyike nociceptív és nem nociceptív ingerekre szerteágazó válaszkészséggel rendelkezik. A nociceptív érző neuronok nem csak az éppen zajló szöveti sérülés jelzéséért felelősek, de alapvető szerepük van a folyamatos fájdalom és sokféle krónikus fájdalomállapothoz tartozó hiperszenzitivitás létrehozásában is. Ezért a nociceptorokban történő és a nociceptorok közötti jelátvitel molekuláris és sejtszintű

megértése alapvető új és hatékony és fájdalomterápiák kifejlesztéséhez.

A fájdalom vizsgálatának kísérletes lehetőségei

Bár a human önkénteseken végezhető, fájdalommal kapcsolatos vizsgálatok etikailag engedélyezettek, ezek a vizsgálatok nagyon behatároltak. Általában egészséges egyénekre korlátozódnak és nagyon ritkán közelítik meg azokat a kísérleti körülményeket, amelyek mechanizmusok feltárására lettek kidolgozva. Emiatt a fájdalom és a nocicepció mechanisztikus megértése leginkább egér és patkány állatmodelleken végzett vizsgálatokból származik. Annak ellenére, hogy számos patofiziológiai mechanizmus jelen van mind a rágcsálókban, mind az emberekben, fontos anatómiai, molekuláris és sejtszintű különbségek nagy valószínűséggel hozzájárultak néhány fájdalomra vizsgált gyógyszer transzlációs kudarcához. A két megközelítés között megmaradó réseket emberi idegszövet

használatával kezdik áthidalni. Az emberi idegszövet vizsgálatában jelentős potenciál van abban az értelemben, hogy a nocicepció molekuláris és sejtszintű alapjait jobban megértsük és befolyásolni tudjuk az embereknél. Mielőtt a költséges humán klinikai vizsgálatok elkezdődnének, ezeken a sejtszintű platformként szolgáló modelleken tesztelhetők a potenciális targetek és gyógyszerek transzlációs értéke. Ezért ebben a tájékoztatóban az emberi hátsógyöki ganglionok érző neuronjaira fogunk fókuszálni.

Nociceptorok, receptorok, ioncsatornák és fájdalom

Szükségszerűen a nociceptorok alapállapotukban nyugalmában vannak és válaszkészségük szövetkárosító hatásokra korlátozódik. Ugyanakkor ezek a neuronok szenzitizálódhatnak (érzékenyebbé válhatnak). A szenzitizációt jelzi a spontán aktivitás megjelenése, az aktiváció ingerküszöbének lecsökkenése és/vagy egy adott ingerre mutatott fokozott válaszkészség különböző körülmények között. Ez lehet például idegsérülés, szöveti gyulladás, metabolikus vagy genetikai eltérés, ami hozzájárul, vagy nagy valószínűséggel okozza a krónikus fájdalomállapotot. A nociceptorok perifériás idegvégződéseinek speciális receptorok találhatóak, amelyek szövetkárosító hatásokra aktiválódnak. Az aktiváció receptorpotenciál kialakulásához vezet. A receptorpotenciál adott küszöbszintet elérve, ioncsatornák sokaságának együttműködésén keresztül, akciós potenciál formájában megjelenő idegi impulzus létrejöttét eredményezi. A perifériáról a gerincvelőbe érkező akciós potenciálok neurotranszmitter felszabadulást idéznek elő a centrális nyúlványok végződéseiből, amelyek a posztzinaptikus neuronok aktivációját idézik elő. Ezt követően az idegi impulzusok a gerincvelőből az agy különböző központjaihoz jutnak el. A többszintű ingerületfeldolgozás eredményeként kialakul a fájdalomérzet. Számos bizonyíték támasztja alá azt az elképzelést, hogy a szenzitizáció a szignáltranszdukció és a transzmitter kibocsátás között történő egyes lépések bármelyikében bekövetkező változásnak a következménye. A célirányos kezelések egyik akadályja az, hogy azok a sejtszintű folyamatok, amelyek a szenzitizációt eredményezik, jelentősen eltérnek attól függően, hogy milyen szöveti károsodásról van szó, hol történt, mennyi idő telt el azóta, mi volt a sérült neme, volt-e előzménye, milyen a sérült genetikája – de függhet még az egyes állatmodellektől, ill. az állat és ember közötti különbségektől. Az emberi nociceptorok ingerelhetőségének és szenzitizációjának molekuláris szintű megértése alapvetően fontos új és hatékony fájdalomterápiák kidolgozásához.

Emberi hátsógyöki ganglionsejtek a fájdalom alapvető mechanizmusainak megértését célzó kutatásokban

Mindaz, ami a nocicepció molekuláris és sejtszintű folyamatairól kikristályosodott, rágcsálók hátsógyöki ganglion (DRG) sejtjein végzett kutatásokból származik. Megfelelő számú életképes érző neuron hiányában a korábbi, emberből származó ganglion spinale-n végzett vizsgálatok nagyon korlátozott számú neuronon alapultak. Ez a helyzet változik azáltal, hogy a szervdonorokból vagy a gyors autopsziákból nyert minták túlélése együtt növekszik a sejtizolálás és a sejt kultúrák életben tartását elősegítő módszerek fejlődésével, amik molekuláris és funkcionális vizsgálatokat tesznek lehetővé. A humán hátsógyöki ganglionok vizsgálata rávilágított arra, hogy a rágcsálómodellekben leírt alapvető mechanizmusok, amelyek a nociceptorok stimulusokra adott válaszait írják le, emberben is megőrzöttek. Ugyanakkor fontos különbségekre is fény derült, amelyek több, rágcsálóból származó eredmény újragondolását igényli. Ezekről lesz szó a következő fejezetekben.

Fajspecifikus különbségek a hátsógyöki ganglionsejtek transzkriptómájában és sejtszintű összetevőiben

Elegáns morfológiai és funkcionális vizsgálatok eredményei szerint a rágcsálók hátsógyöki ganglionsejtjeinek egyes alcsoportjaihoz specifikus érző modalitások kapcsolhatók. Új szekvenáló eljárások megjelenése lehetővé tette a sejtszintű vizsgálatokat és a DRG neuronok transzkriptómájának részletes elemzését, amikkel bizonyítást nyert a specifikus szenzoros modalitásokhoz kapcsolható neuroncsoportok léte egerekben és főemlősökben. Ugyanakkor számos fontos szempontot figyelembe véve a modalitás-specifikus neuroncsoportok emberben nem feltétlenül esnek egybe a modellfajokban leírtakkal. Például emberben a nociceptorok nem különíthetők el peptiderg és nem-peptiderg nociceptorokra, amelyeket egerekben találtak, illetve a Tranziens Receptor Potenciál Vanilloid 1 (TRPV1) receptor, ami a csípős paprika erejét adó kapszaicinre is aktiválódik, sokkal több DRG neuronon található emberben, mint rágcsálókban. Ez rávilágít arra, hogy mennyire fontos óvatosan interpretálni az egerek genetikailag meghatározott neuroncsoportjainak manipulációján alapuló funkcionális vizsgálatok eredményeit, mivel ugyanannak a sejt típusnak az elkülönítése emberben nem biztos, hogy lehetséges. Ahogyan egyre több és több információ származik humán DRG sejtek karakterizálásból, ezeket integrálni kell más fajokból származó adatokkal, hogy képesek legyünk a vizsgálati célpontokat terápiává alakítani.

Ioncsatornák és receptorok fajspecifikus különbségei

Új fájdalomterápiák kifejlesztésében fontos szerepet töltenek be azok a human DRG neuronokon végezhető kísérletek, amelyekben az analgetikumok kifejlesztésének célpontjában lévő ioncsatornák és receptorok sajátságait vizsgálják. Míg a neuronok tüzelését szabályozó ioncsatornák és receptorok expressziós mintázata elég jól megőrzött rágcsálókban és emberben, jelentős különbségek mutatkoznak a csatornák és a receptorok biofizikai és farmakológiai sajátságaiban. Rágcsálók DRG neuronjaiban az akciós potenciál létrehozásához szükséges ingerküszöb alacsonyabb, mint emberben, ami különbségeket sejtet az ioncsatornák relatív számában és biofizikai tulajdonságaiban. Hartunk és munkatársai meg is találták ezeket a fajspecifikus különbségeket a nagyfeszültségre aktiválódó kalcium csatornák esetében. Ezek a csatornák fontos szerepet játszanak a neurotranszmitterek kibocsátását eredményező folyamatokban, amelyek a gerincvelő hátsó szarvában lévő elsőrendű szinapszisokban játszódnak le. Zhang és kollégái pedig arról számoltak be, hogy a humán DRG neuronok nátrium áramai kevésbé érzékenyek a szelektív nátriumcsatorna-blokkoló tetrodotoxinra, mint a rágcsálók DRG neuronjai. Míg ezek a vizsgálatok alkalmasak arra, hogy alapszintű ismereteket nyerjünk belőlük, számos olyan példa is akad, amelyekben különböző laboratóriumok emberi DRG sejteken végzett vizsgálatainak eredményei egyáltalán nem voltak konzisztensek. A tetrodotoxinra nem érzékeny nátrium áramok biofizikai tulajdonságait vizsgáló két tanulmány eredményei között lévő legszembetűnőbb különbség rávilágított arra, hogy jelentősége van annak, hogy mennyire heterogén neuroncsoporton történik a mérés. Egy másik példa. Az emberi DRG neuronok ionotróp acetilkolin receptorainak biofizikai és farmakológiai tulajdonságai jelentősen különböznek attól, amit egérben vagy patkányban találtak. Ezek a fajspecifikus különbségek magyarázhatják, hogy ezeknek a receptoroknak az agonistái végül miért nem működtek a fájdalom kezelésére irányuló klinikai vizsgálatokban. A feszültségfüggő ioncsatornák mellett az ionotróp és a G fehérje kapcsolt receptorok (GPCR) is előtérbe kerültek, mint potenciális fájdalomcsillapítók célstruktúrái. Számos tanulmány azt mutatta, hogy az opioid, kannabinoid és más metabotróp receptorok bizonyos funkcionális és anatómiai különbségeket mutatnak rágcsálókban és emberben. A GPCR aktivációját követően, az intracelluláris másodlagos hírvívó molekulák jelátviteli mechanizmusainak és a jelindukált gén expressziójának a vizsgálata fontos út lehet az új

analgetikumok funkcionális transzlációjának vizsgálatában, vagy a nociceptor moduláció mechanizmusainak megismerésében. Ha majd a human DRG neuronok használata és elérhetősége széles körben terjed, valamint független csoportoktól több és több adat gyűlik össze, egyre tisztább kép alakul ki a különbségek skálájáról. Már most nyilvánvaló, hogy a csatornák és receptorok sajátságaiban és expressziójában megmutatkozó fajok közötti különbségek átalakítják a nocicepció molekuláris és sejtszintű alapjairól alkotott nézeteinket.

A kísérleti eredményekből nyert ismeretek a klinikai gyakorlatba történő transzlációjának lehetőségei és korlátai

A human DRG sejtekből nyert adatok még mindig korlátozott számban állnak rendelkezésre és ehhez a szöveghöz még nem lehet széles körben hozzáférni. A DRG sejtek leginkább csak szervdonorokból származnak, akik definíció szerint valamilyen végzetes kimenetelű eseményen mentek keresztül, illetve műtéti anyagból vagy gyors autopsziából lettek kivéve és aligha nevezhetők „ép” szövetnek. Kétségtelen, hogy szervdonornak olyanokat választanak, akiknek sem fertőző betegsége, sem tumoros vagy egyéb betegsége nem volt, ami krónikus fájdalomhoz vezet és veszélyezteti a transzplantáció lehetőségét. Ugyanakkor krónikus fájdalomban szenvedő betegekben származó szenzoros neuronok vizsgálata is egyre gyakoribb. Nagyon fontos a belőlük kapott eredmények összehasonlítása azokkal, amelyek krónikus fájdalom nélkül élő egyénekből származnak. A meglévő vizsgálatok nem elég átfogóak ahhoz, hogy foglalkozni lehessen a donorok heterogenitásával, ami számos faktoron alapul (néhányuk könnyen azonosítható, míg néhányuk ismeretlen mind biológiai, mind történelmi szempontból) és hozzájárul az egyének közötti eltérésekhez, ami a nociceptív ingerekre adott válaszokban mutatkozik meg. Emiatt szükség van további és kiterjedtebb humán ganglionsejt vizsgálatokra, amelyekben szerepel a donor története is. Ez csak akkor valósulhat meg, ha több szövetet tudunk életben tartani és széleskörben elérhetővé tenni. Az ioncsatornák farmakológiai és egyéb sajátságaiban megmutatkozó fajspecifikus különbségek fontosak lehetnek új fájdalomterápiák kifejlesztése szempontjából is. Például Walker és munkatársai meghatározták, hogy az emberi Nav1.7 csatorna, ami a fájdalom kezelésének az egyik legfontosabb gyógyszerfejlesztési célpontja, 200-szor ellenállóbb a saxitoxinnal történő blokkolásra, mint jószólták. A csatorna külső tornácán azonosítottak két olyan reziduumot, amelyek különböznek a főemlősökben a nem főemlősöktől és felelősek a tox-

inrezisztenciáért. Erre az információra építve került fájdalomterápiás klinikai vizsgálatra egy saxotoxin származék, ami Nav 1.7 csatorna blokkolóként lett fejlesztve. Összefoglalásként elmondható, hogy az ioncsatornák és receptorok sajátosságainak fajok közötti különbségei tehetők felelőssé a neuronok különböző tüzelési sajátosságaiért és a farmakonokra adott eltérő válaszaikért. Ez teszi fontossá, hogy az új gyógyszerek megfelelő emberi DRG sejteken is legyenek tesztelve. Ezen felül az emberi DRG neuronok funkcionális alcsoportjainak speciális szenzoros modalitásokkal való összekapcsolása is szükséges lesz a fájdalom új mechanizmus-alapú kezeléséhez. A humán sejtekhez való jobb hozzáférés és az egyre pontosabb karakterizálás lehetősége növelheti az állatmodellekből kapott eredmények hatékonyabb transzlációját és új célterületek azonosítását.

Fordította: dr. Puskár Zita

Referenciák

[1] Anand P, Yiangou Y, Anand U, Mukerji G, Sinisi M, Fox M, McQuillan A, Quick T, Korchev YE, Hein P. Nociceptin/orphanin FQ receptor expression in clinical pain disorders and functional effects in cultured neurons. *Pain* 2016;157(9):1960-1969.

[2] Anand U, Otto WR, Casula MA, Day NC, Davis JB, Bountra C, Birch R, Anand P. The effect of neurotrophic factors on morphology, TRPV1 expression and capsaicin responses of cultured human DRG sensory neurons. *Neurosci Lett* 2006;399(1-2):51-56.

[3] Anand U, Otto WR, Sanchez-Herrera D, Facer P, Yiangou Y, Korchev Y, Birch R, Benham C, Bountra C, Chessell IP, Anand P. Cannabinoid receptor CB2 localisation and agonist-mediated inhibition of capsaicin responses in human sensory neurons. *Pain* 2008;138(3):667-680.

[4] Basbaum AI, Bautista DM, Scherrer G, Julius D. Cellular and molecular mechanisms of pain. *Cell* 2009;139(2):267-284.

[5] Costigan M, Scholz J, Woolf CJ. Neuropathic Pain: A Maladaptive Response of the Nervous System to Damage. *Annu Rev Neurosci* 2009;32:1-32.

[6] Davidson S, Copits BA, Zhang J, Page G, Ghetti A, Gereau RWt. Human sensory neurons: Membrane properties and sensitization by inflammatory mediators. *Pain* 2014;155(9):1861-1870.

[7] Davidson S, Golden JP, Copits BA, Ray PR, Vogt SK, Valtcheva MV, Schmidt RE, Ghetti A, Price TJ, Gereau RWt. Group II mGluRs suppress hyperexcitability in mouse and human nociceptors. *Pain* 2016;157(9):2081-2088.

[8] Dib-Hajj SD, Tyrrell L, Cummins TR, Black JA, Wood PM, Waxman SG. Two tetrodotoxin-resistant sodium channels in human dorsal root ganglion neurons. *FEBS Lett* 1999;462(1-2):117-120.

[9] Duttá S, Hosmane BS, Awni WM. Population analyses of efficacy and safety of ABT-594 in subjects with diabetic peripheral neuropathic pain. *AAPS J* 2012;14(2):168-175.

[10] Giblin JP, Etayo I, Castellanos A, Andres-Bilbe A, Gasull X. Anionic Phospholipids Bind to and Modulate the Activity of Human TRESK Background K(+) Channel. *Mol Neurobiol* 2019;56(4):2524-2541.

[11] Gilron I, Coderre TJ. Emerging drugs in neuropathic pain. *Expert Opin Emerg Drugs* 2007;12(1):113-126.

[12] Han C, Estacion M, Huang J, Vasylyev DV, Zhao P, Dib-Hajj S, Waxman SG. Human Nav1.8: enhanced persistent and ramp currents contribute to distinct firing properties of human DRG neurons. *J Neurophysiol* 2015;113(9):3172-3185.

[13] Hartung JE, Moy JK, Loeza-Alcocer E, Nagarajan V, Jostock R, Christoph T, Schroeder W, Gold MS. Voltage gated calcium channels in human dorsal root ganglion neurons. *Pain* 2021[doi: 10.1097/j.pain.0000000000002465].

[14] Kupari J, Usoskin D, Parisien M, Lou D, Hu Y, Fatt M, Lonnerberg P, Spangberg M, Eriksson B, Barkas N, Kharchenko PV, Lore K, Khoury S, Diatchenko L, Ernfors P. Single cell transcriptomics of primate sensory neurons identifies cell types associated with chronic pain. *Nat Commun* 2021;12(1):1510.

[15] Li Y, North RY, Rhines LD, Tatsui CE, Rao G, Edwards DD, Cassidy RM, Harrison DS, Johansson CA, Zhang H, Dougherty PM. DRG Voltage-Gated Sodium Channel 1.7 Is Upregulated in Paclitaxel-Induced Neuropathy in Rats and in Humans with Neuropathic Pain. *J Neurosci* 2018;38(5):1124-1136.

[16] Liu C, Au JD, Zou HL, Cotten JF, Yost CS. Potent activation of the human tandem pore domain K channel TRESK with clinical concentrations of volatile anesthetics. *Anesth Analg* 2004;99(6):1715-1722.

[17] Middleton SJ, Barry AM, Comini M, Li Y, Ray PR, Shiers S, Themistocleous AC, Uhelski ML, Yang X, Dougherty PM, Price TJ, Bennett DL. Studying human nociceptors: from fundamentals to clinic. *Brain* 2021;144(5):1312-

1335.

[18] Moy JK, Hartung JE, Duque MG, Friedman R, Nagarajan V, Loeza-Alcocer E, Koerber HR, Christoph T, Schroeder W, Gold MS. Distribution of functional opioid receptors in human dorsal root ganglion neurons. *Pain* 2020;161(7):1636-1649.

[19] Nadeau SE. Opioids for chronic noncancer pain: To prescribe or not to prescribe-What is the question? *Neurology* 2015;85(7):646-651.

[20] Nguyen NQ, von Buchholtz LJ, Reker AN, Ryba NJP, Davidson S. Single-nucleus transcriptomic analysis of human dorsal root ganglion neurons. *eLife* 2021;10:e71752.

[21] North RY, Li Y, Ray P, Rhines LD, Tatsui CE, Rao G, Johansson CA, Zhang H, Kim YH, Zhang B, Dussor G, Kim TH, Price TJ, Dougherty PM. Electrophysiological and transcriptomic correlates of neuropathic pain in human dorsal root ganglion neurons. *Brain* 2019;142(5):1215-1226.

[22] Pajouhesh H, Beckley JT, Delwig A, Hajare HS, Luu G, Monteleone D, Zhou X, Ligutti J, Amagasu S, Moyer BD, Yeomans DC, Du Bois J, Mulcahy JV. Discovery of a selective, state-independent inhibitor of Nav1.7 by modification of guanidinium toxins. *Sci Rep* 2020;10(1):14791.

[23] Price TJ, Basbaum AI, Bresnahan J, Chambers JF, De Koninck Y, Edwards RR, Ji RR, Katz J, Kavelaars A, Levine JD, Porter L, Schechter N, Sluka KA, Terman GW, Wager TD, Yaksh TL, Dworkin RH. Transition to chronic pain: opportunities for novel therapeutics. *Nat Rev Neurosci* 2018;19(7):383-384.

[24] Radbruch L, Elsner F. Emerging analgesics in cancer pain management. *Expert Opin Emerg Drugs* 2005;10(1):151-171.

[25] Ray P, Torck A, Quigley L, Wangzhou A, Neiman M, Rao C, Lam T, Kim JY, Kim TH, Zhang MQ, Dussor G, Price TJ. Comparative transcriptome profiling of the human and mouse dorsal root ganglia: an RNA-seq-based resource for pain and sensory neuroscience research. *Pain* 2018;159(7):1325-1345.

[26] Renthal W, Chamesian A, Curatolo M, Davidson S, Burton M, Dib-Hajj S, Dougherty PM, Ebert AD, Gereau RWt, Ghetti A, Gold MS, Hoben G, Menichella DM, Mercier P, Ray WZ, Salvemini D, Seal RP, Waxman S, Woolf CJ, Stucky CL, Price TJ. Human cells and networks of pain: Transforming pain target identification and therapeutic development. *Neuron* 2021;109(9):1426-1429.

[27] Rostock C, Schrenk-Siemens K, Pohle J, Siemens J. Human vs. Mouse Nociceptors - Similarities and Differences. *Neuroscience* 2018;387:13-27.

[28] Rowbotham MC, Duan RW, Thomas J, Nothaft W, Backonja MM. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial evaluating the efficacy and safety of ABT-594 in patients with diabetic peripheral neuropathic pain. *Pain* 2009;146(3):245-252.

[29] Serrano A, Mo G, Grant R, Pare M, O'Donnell D, Yu XH, Tomaszewski MJ, Perkins MN, Seguela P, Cao CQ. Differential expression and pharmacology of native P2X receptors in rat and primate sensory neurons. *J Neurosci* 2012;32(34):11890-11896.

[30] Sharma N, Flaherty K, Lezgyieva K, Wagner DE, Klein AM, Ginty DD. The emergence of transcriptional identity in somatosensory neurons. *Nature* 2020;577(7790):392-398.

[31] Shiers S, Klein RM, Price TJ. Quantitative differences in neuronal subpopulations between mouse and human dorsal root ganglia demonstrated with RNAscope in situ hybridization. *Pain* 2020;161(10):2410-2424.

[32] Shiers SI, Sankaranarayanan I, Jeevakumar V, Cervantes A, Reese JC, Price TJ. Convergence of peptidergic and non-peptidergic protein markers in the human dorsal root ganglion and spinal dorsal horn. *J Comp Neurol* 2021;529(10):2771-2788.

[33] Tavares-Ferreira D, Shiers S, Ray PR, Wangzhou A, Jeevakumar V, Sankaranarayanan I, Cervantes A, Reese JC, Chamesian A, Copits BA, Dougherty PM, Gereau RW, Burton MD, Dussor G, Price TJ. Spatial transcriptomics reveals unique molecular fingerprints of human nociceptors. *bioRxiv* 2021:2021.2002.2006.430065.

[34] Thomas-Tran R, Du Bois J. Mutant cycle analysis with modified saxitoxins reveals specific interactions critical to attaining high-affinity inhibition of hNav1.7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;113(21):5856-5861.

[35] Usoskin D, Furlan A, Islam S, Abdo H, Lonnerberg P, Lou D, Hjerling-Leffler J, Haeggstrom J, Kharchenko O, Kharchenko PV, Linnarsson S, Ernfors P. Unbiased classification of sensory neuron types by large-scale single-cell RNA sequencing. *Nat Neurosci* 2015;18(1):145-153.

[36] Valeyev AY, Hackman JC, Wood PM, Davidoff RA. Pharmacologically novel GABA receptor in human dorsal root ganglion neurons. *J Neurophysiol* 1996;76(5):3555-3558.

[37] Valtcheva MV, Copits BA, Davidson S, Sheahan TD, Pullen MY, McCall JG, Dikranian K, Gereau RWt. Surgical extraction of human dorsal root ganglia from organ donors and preparation of primary sensory neuron cultures. *Nat Protoc* 2016;11(10):1877-1888.

[38] Walker JR, Novick PA, Parsons WH, McGregor M, Zablocki J, Pande VS, Du Bois J. Marked difference in saxitoxin and tetrodotoxin affinity for the human nociceptive voltage-gated sodium channel (Nav1.7) [corrected]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109(44):18102-18107.

[39] Zhang X, Hartung JE, Friedman RL, Koerber HR, Belfer I, Gold MS. Nicotine Evoked Currents in Human Primary Sensory Neurons. *J Pain* 2019;20(7):810-818.

[40] Zhang X, Priest BT, Belfer I, Gold MS. Voltage-gated Na+ currents in human dorsal root ganglion neurons. *Elife* 2017;6.

[41] Zheng Y, Liu P, Bai L, Trimmer JS, Bean BP, Ginty DD. Deep Sequencing of Somatosensory Neurons Reveals Molecular Determinants of Intrinsic Physiological Properties. *Neuron* 2019;103(4):598-616 e597.